大量注入を用いる河川水中有機塩素系農薬の迅速分析

＜要旨＞　PTV 注入口を用いる大量注入に、10µl シリンジを用いるマルチプルインジェクション（Agilent 7683 オートジンジェクタ）を使用し、100µl の導入を行いました。前処理は、20ml ヘッドスペース用バイアルを用いた液液抽出（5 倍濃縮）とし、GC/NCI-MS で測定を行い、河川水中有機塩素系農薬　0.004－2.2ng/l の検出が可能となりました。PTV 測定条件の最適化についても詳述します。

Key Words: 大量注入、マルチプルインジェクション、PTV 注入口、有機塩素系農薬、POPs、NCI 法

＊ ＊ ＊ ＊ ＊ ＊ ＊

1．はじめに

有機塩素系農薬は、1998 年に環境庁が環境ホルモンとしての疑いを示し、近年は残留性有機汚染物質（POPs）としても関心を集めています。POPs は、環境中で分解されにくく、生物の体内に蓄積しやすいなどの性質を持つため、特に優先して対策を取らなければならない物質として、12 種類の化学物質（アルドリン、ディルドリン、エンドリン、クロルデン、ヘプタクロル、トキサフェン、マイレックス、ヘキサクロロベンゼン、ＰＣＢ、ＤＤＴ、ダイオキシン類及びフラン類）がストックホルム条約（2001 年 5 月採択、2004 年 5 月発効）の対象となっています。この中で有機塩素系農薬は 9 物質であり、トキサフェン及びマイレックスは我が国における製造、使用の実績はありません。このアプリケーションニュースでは、トキサフェンを除く POPs 指定の農薬 8 種及びその他の有機塩素系農薬 15 種（環境ホルモンの疑いがある）について、昇温気化注入口（PTV）を用いる大量注入の検討を行い、高感度化を図りました。検出には、有機塩素系農薬等の電子親和性の高い化合物に高感度、高選択的な検出が可能な負イオン化学イオン化質量分析法（NCI-MS）を用いました。

2．PTV 測定条件の最適化

2.1　PTV 初期温度及びベント流量

初期温度は 0 から 60℃の範囲で，ベント流量は 25 から 200ml/min の範囲で検討を行いました（混合標準溶液：500pg/ml，注入量：40µl，注入間隔：0 秒，PTV 最終温度：350℃，サンプル移行時間：2 分，PTV 昇温速度：330℃/分）。Fig.1 に，α-BHC，trans-nonachlor，mirex についての結果を示しました。ほとんどの農薬についても，ほぼ同様な傾向を示しました。初期温度 0，10，20，30℃では，それぞれベント流量 100，100，50，25ml/min で最大の面積値を示し（溶媒：ヘキサン），それらの組み合わせにおけるピーク面積値の繰り返し再現性は，すべての農薬の相対標準偏差（n=6）を平均した値としてそれぞれ 3.7，3.1，3.2，5.5%でした。10℃，100ml/min 及び 20℃，50ml/min において，再現性はより良好な結果を示し，感度では 20℃，50ml/min の方が良好であったため，この組み合わせを測定条件としました。

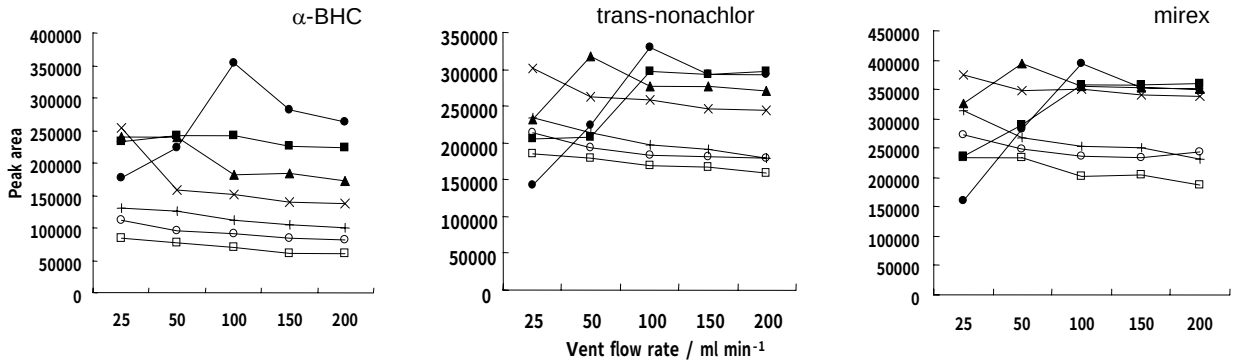

Fig.1 PTV 初期温度及びベント流量のピーク面積値に及ぼす影響
●：0℃，■：10℃，▲：20℃，×：30℃，＋：40℃，○：50℃，□：60℃

Agilent Technologies

2.2　注入間隔，PTV 最終温度，サンプル移行時間及び PTV 昇温速度

マルチプルインジェクションの注入間隔は 0，1，2，3，4 秒で検討を行いました（混合標準溶液：500pg/ml，注入量：40µl，PTV 最終温度：350°C，サンプル移行時間：2 分，PTV 昇温速度：330°C）。注入間隔は設定上の値であり，実際には 0 秒でもシリンジでのサンプルの採取があり、その分の間隔が空きます。0 から 2 秒までは僅かにピーク面積値が減少しましたが，2 から 4 秒ではほとんどピーク面積値の変化はありませんでした。PTV 最終温度は 200, 250, 300, 350, 400°C で検討を行いました（混合標準溶液：500pg/ml，注入量：40µl，注入間隔：0 秒，サンプル移行時間：2 分，PTV 昇温速度：330°C）。最終温度の増加に従い，ピーク面積値は僅かに増加の傾向を示しました。PTV からキャピラリカラムへのサンプル移行時間は 0，0.5，1，1.5，2 分で検討を行いました（混合標準溶液：500pg/ml，注入量：40µl，注入間隔：0 秒，PTV 最終温度：300°C，PTV 昇温速度：280°C）。サンプル移行時間は PTV が最終温度になってからの時間としました。0 から 1 分までは僅かにピーク面積値が増加しましたが，1 から 2 分では，ほとんどピーク面積値は変化がありませんでした。PTV 昇温速度は 180，280，360，720°C/分で検討を行いました（混合標準溶液：500pg/ml，注入量：40µl，注入間隔：0 秒，PTV 最終温度：300°C，サンプル移行時間：1 分）。180 から 280°C/分までは僅かにピーク面積値が増加しましたが，280 から 720°C/分ではほとんど面積値の変化はありませんでした。以上より，PTV 測定条件は注入間隔 0 秒，最終温度 300°C，サンプル移行時間 1 分，昇温速度 280°C/分としました。

2.3　注入量

注入は 10µl のマイクロシリンジ（5µl が最大注入量）を用いるマルチプルインジェクションで行いました。例えば 100µl では、5µl を 20 回に分けて注入を行いました。注入量 50 から 400µl の範囲で検討を行った結果を Fig.2 に示しました（混合標準溶液：500pg/ml）。ほとんどの農薬において，50 から 350µl の範囲で直線性が得られましたが，注入量は実用性を考慮し 100µl としました。

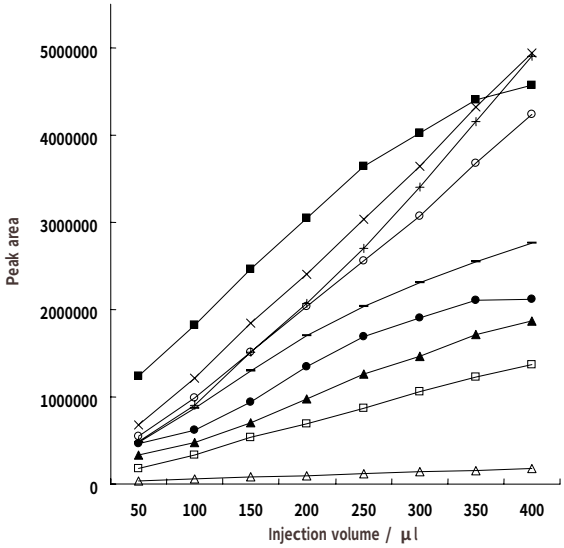

Fig.2　注入量とピーク面積値の関係
●: α-BHC，■: HCB，▲: γ-BHC，
×: *trans*-chlordane，＋: α-endosulfan，
○: *trans*-nonachlor，□: dieldrin，
D: *p,p* f-DDE，－: mirex

3．測定条件

河川水 10ml に塩化ナトリウム 0.3g を加え完全に溶解させてから，ヘキサン 2ml を加え 3 分間振り混ぜた後，有機相 100µl を大量注入により GC/MS に注入しました（マルチプルインジェクション、5µlx 20 回）。測定には、Agilent 6890GC/5973MSD を用いました。キャピラリーカラムには，HP-5MS （30m，0.25mm id，0.25µm film thickness）を使用しました。大量注入には、PTV を用いました。GC/MS による測定条件は以下に示しました。CI の試薬ガスには，メタンを用いました。質量スペクトルの測定は，全イオン検出法（TIM，　測定質量範囲：m/z＝10-570，走査速度：1.36scans/s）で行い，定量には選択イオン検出法（SIM，　ホールド時間：35-150ms）を用いました。

(GC)
オーブン温度: 90°C(5.32min) → 20°C/min → 170°C (0min) → 5°C/min → 250°C(0min) → 15°C/min → 280°C(2.5min)
PTV 注入モード: ソルベントベント，ベント流量: 50ml/min，ベント圧力: 0 kPa until 3.22min，ベント流量オフ until 5.32min　（マルチバッフルライナー）
PTV 注入口温度: 20°C(3.32min) → 280°C/min → 300°C (1min) → 250°C/min → 350°C(2.8min)
キャリヤーガス: ヘリウム (1.2ml/min，定流量モード)
インターフェース温度: 280°C
(MSD)
イオン化モード: NCI
試薬ガス: メタン
試薬ガス流量: 2.5ml/min
イオン源温度: 150°C

4．結果

Fig.3 に標準品 20pg を添加した河川水（10ml、濃度：2ng/l）及び無添加の河川水（10ml）から抽出した対象成分の SIM クロマトグラムを示しました。無添加の河川水からはα-BHC，β-BHC，γ-BHC，endosulfan sulfate，p,p’-DDT が検出されました（α-BHC：0.30，β-BHC：0.38，γ-BHC：0.75，endosulfan sulfate：0.59，p,p’-DDT：0.61 ng/l）。河川水における検出限界を Table 1 に示しました。メソッド検出限界（MDL）は、0.004 から 2.2ng/l でした。Table 1 に、回収率及び繰り返し再現性を示しました。回収率は，濃度 2ng/l で 75 から 111%で，濃度 20ng/l で 92 から 105%でした。ピーク面積値の繰り返し再現性（n=6）は濃度 2ng/l で 2.9 から 15%で，濃度 20ng/l で 0.5 から 5.6%でした。

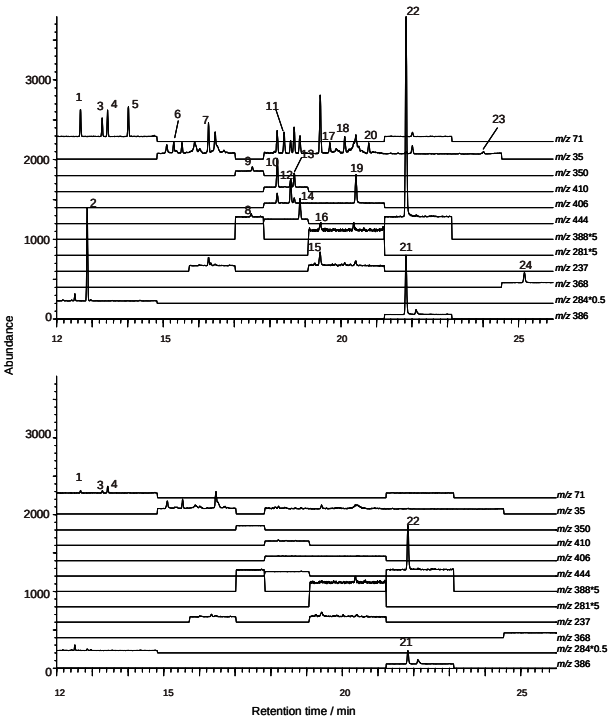

Fig.3　2ng/l 添加河川水（上図）及び無添加河川水（下図）から抽出した対象成分の SIM クロマトグラム

5．まとめ

液液抽出(5 倍濃縮)-大量注入 GC/NCI-MS により、河川水中有機塩素系農薬 24 種の定量を迅速化することができました。マルチプルインジェクションを用いることで、簡便に GC への注入量を増やすことが可能でした。本法により河川水中有機塩素系農薬に対して，0.004-2.2ng/l の検出が可能でした。さらに、固相抽出等で 500 倍程度の濃縮を行うことで、sub-pg/l（ppq）レベルの検出が期待できます。

6．参考文献

1. S. Nakamura, T. Yamagami, S. Daishima, Analyst, 126, 1658 (2001)

Table 1　河川水における回収率及びメソッド検出限界

#	Compounds	Recovery, % (RSD, %) spiked 20 pg in 10 ml river water	Recovery, % (RSD, %) spiked 200 pg in 10 ml river water	Method detection limits (ng/l, ppt)
1	α-BHC	85 (4.7)	102 (3.9)	0.091
2	HCB	75 (3.4)	93 (2.1)	0.0040
3	β-BHC	89 (5.5)	104 (2.4)	0.15
4	γ-BHC	86 (6.1)	103 (2.9)	0.042
5	δ-BHC	89 (4.9)	102 (2.7)	0.078
6	heptachlor	107 (8.6)	97 (5.6)	0.20
7	aldrin	82 (4.9)	92 (1.6)	0.10
8	heptachlor epoxide	111 (15)	97 (3.0)	1.5
9	oxychlordane	88 (3.2)	101 (1.7)	0.23
10	trans-chlordane	83 (3.3)	98 (0.8)	0.012
11	o,p-DDE	93 (5.1)	100 (2.6)	0.10
12	α-endosulfane	92 (3.9)	100 (1.4)	0.034
13	cis-chlordane	85 (3.1)	97 (0.5)	0.028
14	trans-nonachlor	85 (2.9)	95 (3.9)	0.014
15	dieldrin	106 (15)	95 (1.9)	0.38
16	p,p'-DDE	104 (12)	95 (2.3)	2.2
17	o,p-DDD	93 (6.9)	103 (2.8)	0.60
18	endrin	105 (5.9)	113 (1.5)	0.45
19	β-endosulfan	94 (3.7)	99 (1.2)	0.058
20	p,p'-DDD	97 (11)	100 (2.3)	0.63
21	endosulfan sulfate	95 (4.9)	102 (1.5)	0.0060
22	p,p'-DDT	98 (4.3)	103 (1.4)	0.13
23	methoxychlor	111 (8.8)	105 (2.0)	0.77
24	mirex	89 (3.8)	97 (2.0)	0.081

[MS-200703-005]

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
www.agilent.com/chem/jp

Agilent Technologies